

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET

STRELEC SARA

SPOLNE RAZLIKE POKAZATELJA METABOLIZMA MASTI I
OKSIDACIJSKOG STRESA U KRVNOM SERUMU I SRČANOM
MIŠIĆU SVINJA

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2018.

Ovaj je rad izrađen na Zavodu za fiziologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Zavod za fiziologiju i radiobiologiju

Predstojnica: prof. dr. sc. Suzana Milinković Tur

Mentori rada:

doc. dr. sc. Ivona Žura Žaja

izv. prof. dr. sc. Marinko Vilić

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. doc. dr. sc. Ana Šek Vugrovečki
2. doc. dr. sc. Ivona Žura Žaja
3. izv. prof. dr. sc. Marinko Vilić
4. prof. dr. sc. Suzana Milinković Tur (zamjena)

Zahvaljujem se mentorima, doc.dr.sc. Ivoni Žuri Žaji i izv.prof.dr.sc. Marinku Viliću na uloženom trudu i pomoći oko izrade diplomskog rada. Zahvaljujem se prof.dr.sc. Suzani Milinković Tur i doc.dr.sc. Ivoni Žuri Žaji na potpori i motivaciji koju su mi pružile tijekom cijelog studija.

Zahvaljujem se svojoj obitelji i prijateljima, na njihovom strpljenju i vjeri u mene. Najviše se zahvaljujem svojoj majci, bez čije ljubavi ne bih bila osoba koja sam danas.

POPIS KRATICA

ATP: adenzin trifosfat

DNK: deoksiribonukleinska kiselina

FSH: folikulostimulirajući hormon

GGT: gama-glutamil transferaza

GSH: glutation (engl. *glutathione*)

GSH-Px: glutation peroksidaza (engl. *glutathione peroxidase*)

GSH-RD: glutation reduktaza (engl. *glutathione reductase*)

GSSG: oksidirani glutation, glutation disulfid (eng. *glutathione disulfide*)

HDL: lipoproteini visoke gustoće (eng. *high density lipoproteins*)

IDL: lipoproteini srednje gustoće (eng. *intermediate density lipoproteins*)

LDH: laktat dehidrogenaza

LH: luteinizirajući hormon

LDL: lipoproteini niske gustoće (eng. *low density lipoproteins*)

MDA: malondialdehid (engl. *malondialdehyde*)

NADPH: nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (eng. *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*)

ROS: reaktivni kisikovi spojevi (eng. *reactive oxygen species*)

SMK: slobodne masne kiseline (eng. *free fatty acids; FFA*)

SOD: superoksid dismutaza (eng. *superoxide dismutase*)

VLDL: lipoproteini vrlo niske gustoće (eng. *very low density lipoproteins*)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. DOSADAŠNJE SPOZNAJE.....	4
2.1 Fiziologija i anatomija srca.....	4
2.2 Oksidacijski stres i antioksidativni sustav	5
2.3 Srčani metabolizam (masti i lipoproteini)	6
2.4 Spolni hormoni (učinak na metabolizam i oksidacijski stres)	9
3. MATERIJAL I METODE.....	11
3.1. Držanje životinja.....	11
3.2. Tretman životinja.....	11
3.3. Uzorkovanje i analize	12
3.4. Statistička obrada rezultata	13
4. REZULTATI.....	14
5. RASPRAVA.....	18
6. ZAKLJUČCI	24
7. LITERATURA.....	25
8. SAŽETAK.....	29
9. SUMMARY	30
10. ŽIVOTOPIS	32

1. UVOD

Iako je srce daleko najzahtjevniji energetske organ u tijelu, istraživanja metabolizma masti u srcu relativno su oskudna u odnosu na istraživanja provedena u masnom tkivu ili jetri. Funkcija srca kao crpke ovisi o održavanju precizne ravnoteže između rada koje srce mora obaviti i stvaranja energijom bogatih fosfatnih spojeva koji su neophodni za neprekidne reakcije ekscitacije i kontrakcije miokarda. Srčani mišić je veoma oksidativno tkivo, a u normalnim fiziološkim uvjetima miokard svoje energetske potrebe namiruje prvenstveno β -oksidacijom masnih kiselina, koja se najvećim dijelom odvija u mitohondrijima, a manjim dijelom u peroksisomima (SCHULZ, 1994.; VENTURA-CLAPIER i sur., 2003.). Tako srce odraslih sisavaca 60 do 90% svojih energetskih potreba namiruje oksidacijom masnih kiselina, a ostatak namiruje iz glukoze, laktata i ketonskih tijela (NEELY i sur., 1972.). Ipak, srce odrasle jedinke ima sposobnost prilagodbe i na druge izvore energije za stvaranje ATP-a, što ovisi o njihovom hormonalnom i hranidbenom statusu (GOLDBERG i sur., 2012.). Pri tome je potrebno spomenuti i vrsne specifičnosti, te se tako srčani mišić miševa oslanja više na glukozu, laktat i ketonska tijela u pribavljanju energije, a manje na masne kiseline (30%-40%) iz masti (STANLEY i sur., 2005.). Budući da u srčanim mišićnim stanicama mitohondriji zauzimaju 20 do 30% staničnog volumena, dok u oksidativnim skeletnim mišićima zauzimaju oko 6%, a u glikolitičkim mišićima samo 2 do 3 % staničnog volumena (GARNIER i sur., 2003.), povećano stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva i oksidacijski stres mogu dovesti do oštećenja mitohondrija i njihove smanjene funkcije što može rezultirati zatajivanjem srca. Srce prima lipide iz cirkulirajućih neesterificiranih (slobodnih) masnih kiselina (SMK) i esterificiranih masnih kiselina vezanih za lipoproteine. Glavna podjela lipoproteina prema njihovoj gustoći i ultracentrifugiranju je na hilomikrone, lipoproteine vrlo male gustoće (engl. *very low density lipoproteins*; VLDL), lipoproteini male gustoće (engl. *low density lipoproteins*; LDL), lipoproteine srednje gustoće (engl. *intermediate density lipoproteins*; IDL) i lipoproteine velike gustoće (engl. *high density lipoproteins*; HDL). Hilomikronima se transportira kolesterol od crijeva do mišića i ostalih tkiva i organa kojima je potreban za stvaranje energije ili masti.

U fiziološkim uvjetima molekule kisika povremeno oduzimaju elektrone drugim molekulama, čime se stvaraju reaktivni kisikovi spojevi (engl. *reactive oxygen species*; ROS). Reaktivni kisikovi spojevi su svi nestabilni metaboliti kisika velike reaktivnosti, poput superoksidnog radikala, hidroksilnog radikala i neradikalnih molekula, npr. vodikov peroksid

(RAHAL i sur., 2014.). Primarna sinteza ROS-a odvija se u mitohondijima koji generira ATP kroz niz procesa oksidativne fosforilacije.

Smatra se da je oksidacijski stres jedan od glavnih uzroka kardiovaskularnih bolesti današnjice. Štetni učinci ROS-a manifestiraju se kao ubrzano starenje stanica i oštećenje tkiva, osobito srčanih i moždanih stanica (EPEL, 2009.). Brojne studije navode činjenicu da oksidacijski stres pridonosi patogenezi hipertenzije (povišenju krvnog tlaka) koja je bitan čimbenik rizika pri razvitku kardiovaskularnih bolesti i primarni uzrok smrti žena i muškaraca razvijenog (zapadnog) svijeta (OJEDA i sur., 2012.). Malonilaldehid (eng. *malondialdehyde*; MDA) je organski spoj koji se najčešće koristi kao indikator lipidne peroksidacije i samog oksidacijskog stresa. Nastaje kao rezultat peroksidacije višestrukonezasićenih masnih kiselina. Moguće je određivanje stupnja oksidacije prema koncentraciji MDA u krvi, pri čemu koncentracija MDA proporcionalno raste s porastom stupnja oksidacije. Molekula MDA je vrlo reaktivna i ima toksični učinak na tkivo.

Razni egzogeni i endogeni čimbenici mogu poremetiti odnos antioksidansa i ROS-a u tijelu, a kada se u organizmu stvara više reaktivnih kisikovih spojeva nego što ih se može ukloniti, dolazi do oksidacijskog stresa.

Današnjim načinom života ljudi i životinje su izloženi velikim količinama stresa što rezultira nastankom kroničnih zdravstvenih komplikacija poput kardiovaskularnih bolesti. Oksidacijski stres ima važnu ulogu u razvoju kardiovaskularnih bolesti uključujući aterosklerozu, hipertrofiju, dilataciju i infarkt srca. Pri tome, uslijed porasta superoksida i inaktivacije dušičnoga oksida dolazi do slabljenja endotelne vazomotorne funkcije (HEISTAD, 2006). Nadalje, poznato je da oksidacija LDL-a također ima važnu ulogu u patogenezi ateroskleroze (STEINBERG, 1997). Dosad su brojna istraživanja ispitivala povezanost spolnih hormona i nastanka kardiovaskularnih bolesti preko oksidacijskog stresa, a većina je istraživanja provedena na miševima i ljudima. Pri tome je uočena značajna razlika učestalosti razvoja navedenih bolesti između spolova (kod žena se rjeđe razvijaju kardiovaskularne bolesti nego kod muškaraca). Tako su STIRONE i sur. (2005.) ustanovili da fiziološke koncentracije estrogena povećavaju kapacitet cerebrovaskularnih mitohondrija za proizvodnjom energije te da smanjuju proizvodnju ROS-a, iz čega proizlazi prirodna antioksidacijska funkcija estrogena.

Budući da su ispitivanja oksidacijskog stresa miokarda teško izvediva na ljudima, a miševi nisu reprezentativni životinjski modeli, svinje se sve više koriste za ispitivanje svojstava kardiovaskularnog sustava jer je svinjsko srce po svojim anatomskim, histološkim i

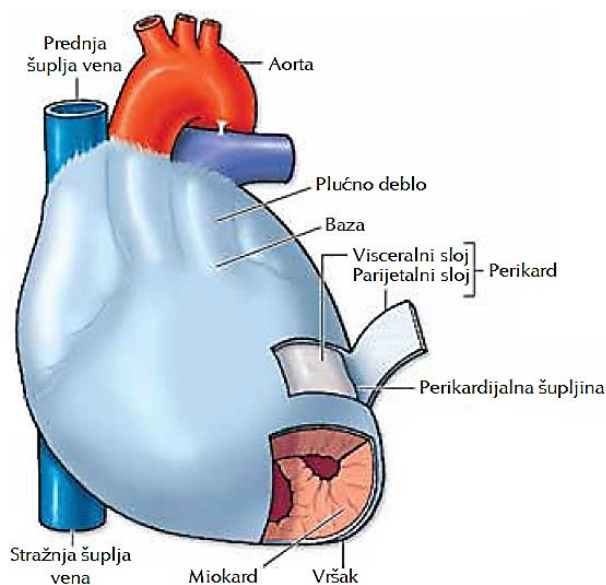
biokemijskim karakteristikama najslbličnije ljudskome srcu. Tako je primjerice, raspodjela dotoka krvi sustavom koronarnih arterija u svinja gotovo identična kao i kod ljudi (SWINDLE i sur., 2012.).

Stoga je opći cilj ovoga rada istražiti spolne razlike u vrijednostima pokazatelja metabolizma masti i oksidacijskog stresa u krvi i miokardu spolno zrelih svinja te na osnovi dobivenih rezultata procijeniti dijagnostički značaj vrijednosti određivanih pokazatelja u fiziološkom smislu koji bi imali važnosti i primjenu u procjeni i dijagnostici u razvoju kardiovaskularnih bolesti, ne samo kod svinja već i kod ljudi. Nadalje, specifični ciljevi ovoga rada jesu: 1) odrediti vrijednosti pokazatelja metabolizma masti u krvnom serumu i miokardu spolno zrelih nerasta, kastrata i ženki svinja; 2) odrediti vrijednosti pokazatelja oksidacijskog stresa (lipidna peroksidacija) i antioksidacijske zaštite (antioksidacijski enzimi) u krvnom serumu i miokardu spolno zrelih nerasta, kastrata i ženki svinja; 3) istražiti postoje li spolne razlike navedenih pokazatelja u istraživanim tkivima te uočiti moguću povezanost količine i sastava masnih tvari s narušavanjem homeostatskih mehanizama koji mogu dovesti do oksidacijskog stresa te mogućih posljedičnih kardiovaskularnih bolesti.

2. DOSADAŠNJE SPOZNAJE

2.1 Fiziologija i anatomija srca

Srce (lat. *cor*) je šuplji mišićni organ koji je u sisavaca podijeljen na četiri cijeline, odnosno dvije klijetke (lat. *ventriculus*) i dvije pretklijetke (lat. *atrium*). Smješten je u grudnoj šupljini, zatvoren je u fibroznoj vreći (lat. *pericardium*) i fiksiran jedino velikim krvnim žilama. Srce je najvećim dijelom građeno od tri glavna srčana mišića: atrijskog mišića, ventrikularnog mišića i specijaliziranih podražljivih i vodljivih mišićnih vlakana. Srčana šupljina je vertikalno podijeljena mišićnim zidom, septumom, na lijevu i desnu stranu. Svaka strana srca sastoji se od dvije šupljine: atrija i ventrikula. Atriji prvenstveno služe za prolaz krvi u ventrikule, ali uz to i lagano pumpaju krv u ventrikule. Atriji imaju dvije funkcije – primarno djeluju kao dovodni spremnici krvi za odgovarajuće ventrikule, no istodobno djeluju i kao crpka koja tjera krv naprijed. Upravo zbog toga u njima vlada nizak tlak i imaju tanke stijenke. Ventrikuli djeluju najvećom silom kojom se krv tjera u pluća, odnosno u perifernu cirkulaciju, zbog čega imaju deblje stijenke. Potrebna sila za tjeranje krvi u sistemsku cirkulaciju je puno veća od sile potrebne za tjeranje krvi u pluća te je mišićna stijenka lijevog ventrikula značajno deblja od desne. (MILINKOVIĆ TUR, 2011.)



Slika 1. Anatomski prikaz srca s perikardom – perikard je građen od vanjskog (parijatelnog) i unutarnjeg (visceralnog) sloja između kojih se nalazi mala količina tekućine (SJAASTAD i sur., 2017.)

Kako bi se osigurao pravilan protok krvi, svaka srčana komora je omeđena srčanim zaliscima koji se pod djelovanjem krvnog tlaka otvaraju i zatvaraju. Između atrijske i ventrikularne se nalaze bikuspidalni i trikuspidalni zalisci koji propuštaju krv iz atrijske u ventrikularnu, ali svojim zatvaranjem onemogućavaju vraćanje krvi iz ventrikularne u atrijsku. Također, na izlazu ventrikularne se nalaze semilunarni zalisci koji propuštaju krv u pluća, odnosno u aortu, te sprečavaju povratak krvi nazad u srce.

Na srčani mišić otpada od 0,4 do 0,7% tjelesne težine, pa tako srce konja teži oko 4 kg, svinje oko 0,5 kg, a čovjeka od 0,2 do 0,3 kg. Naprezanje srca je češće u današnjih, modernih pasmina svinja jer je njihovo srce manje u odnosu na njihovu tjelesnu masu, tako u pasmine Landras srce iznosi 0,21% tjelesne mase dok u divlje svinje iznosi 0,38% tjelesne mase (SJAASTAD i sur., 2017.).

2.2 Oksidacijski stres i antioksidativni sustav

U fiziološkim uvjetima molekule kisika povremeno oduzimaju elektrone drugim molekulama, čime se stvaraju reaktivni kisikovi spojevi (engl. *reactive oxygen species*; ROS). Reaktivni kisikovi spojevi su svi nestabilni metaboliti kisika velike reaktivnosti, poput superoksidnog radikala, hidroksilnog radikala i neradikalnih molekula, npr. vodikov peroksid (RAHAL i sur., 2014.). Primarna sinteza ROS-a odvija se u mitohondijima koji generira ATP kroz niz procesa oksidativne fosforilacije.

Štetni učinci ROS-a manifestiraju se kao ubrzano starenje stanica i oštećenje tkiva, osobito srčanih i moždanih stanica (EPEL, 2009.). Oksidacije dušičnih baza DNK uzrokovane ROS-om događaju se u jezgri i mitohondrijskoj DNK. Mitohondrijska DNK podložnija je štetnim učincima slobodnih radikala zbog svoje blizine njihovom izvoru i manjeg kapaciteta popravka DNK. Modifikacije nukleinskih kiselina dovode do funkcionalnih promjena cijelog niza proteina (enzimskih i strukturnih) sa značajnim posljedicama na organizam. Osim nukleinskih kiselina, česta meta ROS-a su višestrukonezasićene masne kiseline, na kojima uzrokuje lipidnu peroksidaciju. Povećana lipidna peroksidacija povećava rizik razvoja ateroskleroze i drugih upalnih bolesti (ŠTEFAN i sur., 2007.). Intenzitet oksidacijskog stresa može se pratiti mjerenjem proizvoda oksidacije bioloških molekula i/ili određivanjem enzimskih i neenzimskih antioksidansa (POLJSAK i sur., 2013.). Malonilaldehid (MDA) je najpoznatiji proizvod lipidne peroksidacije, odnosno oksidacijskog stresa, koji nastaje kao rezultat peroksidacije višestrukonezasićenih masnih kiselina. MDA je biološki vrlo aktivna molekula koja može

prouzročiti znatna oštećenja bjelancevina i DNK-a s posljedičnim gubitkom stanične funkcije (CATALÁ, 2006., ŠVERKO, 2011.). Moguće je određivanje stupnja oksidacije prema koncentraciji MDA u krvi, pri čemu koncentracija MDA proporcionalno raste s porastom stupnja oksidacije. Molekula MDA je vrlo reaktivna i ima toksični učinak na tkivo.

Kako bi se organizam zaštitio od štetnih učinaka ROS-a, razvio je obrambene mehanizme koji uključuju prevenciju štete i popravne mehanizme. Antioksidansi kataliziraju kaskadne reakcije pretvorbe ROS-a u stabilnije molekule poput vode i kisika. Antioksidansi su sve molekule koje sprečavaju oksidacijski stres. Mogu nastati u stanici ili se unositi u organizam hranom ili vitaminskim i drugim dodacima u hranu. Djeluju na razne načine: onemogućuju stvaranje slobodnih radikala, uklanjaju stvorene radikale ili popravljaju oštećenja u stanicama nastala pod utjecajem slobodnih radikala. Antioksidacijski sustav čini mreža enzimskih i neenzimskih molekula koje se nalaze unutar citoplazme i staničnih organela. Najučinkovitiji mehanizam uklanjanja slobodnih kisikovih radikala i održavanja koncentracije ROS-a na niskoj razini je enzimatskim putem. U životinjskom organizmu postoje antioksidacijski enzimi od kojih su najznačajniji superoksid dismutaza (engl. *superoxide dismutase*; SOD), glutation peroksidaza (engl. *glutathione peroxidase*; GSH-Px), glutation reduktaza (engl. *glutathione reductase*; GSH-RD) i katalaza ali i mnogi drugi enzimi koji se povezuju s antioksidacijskom zaštitom poput gama glutamil transferaze (engl. *gamma glutamyl transferase*; GGT).

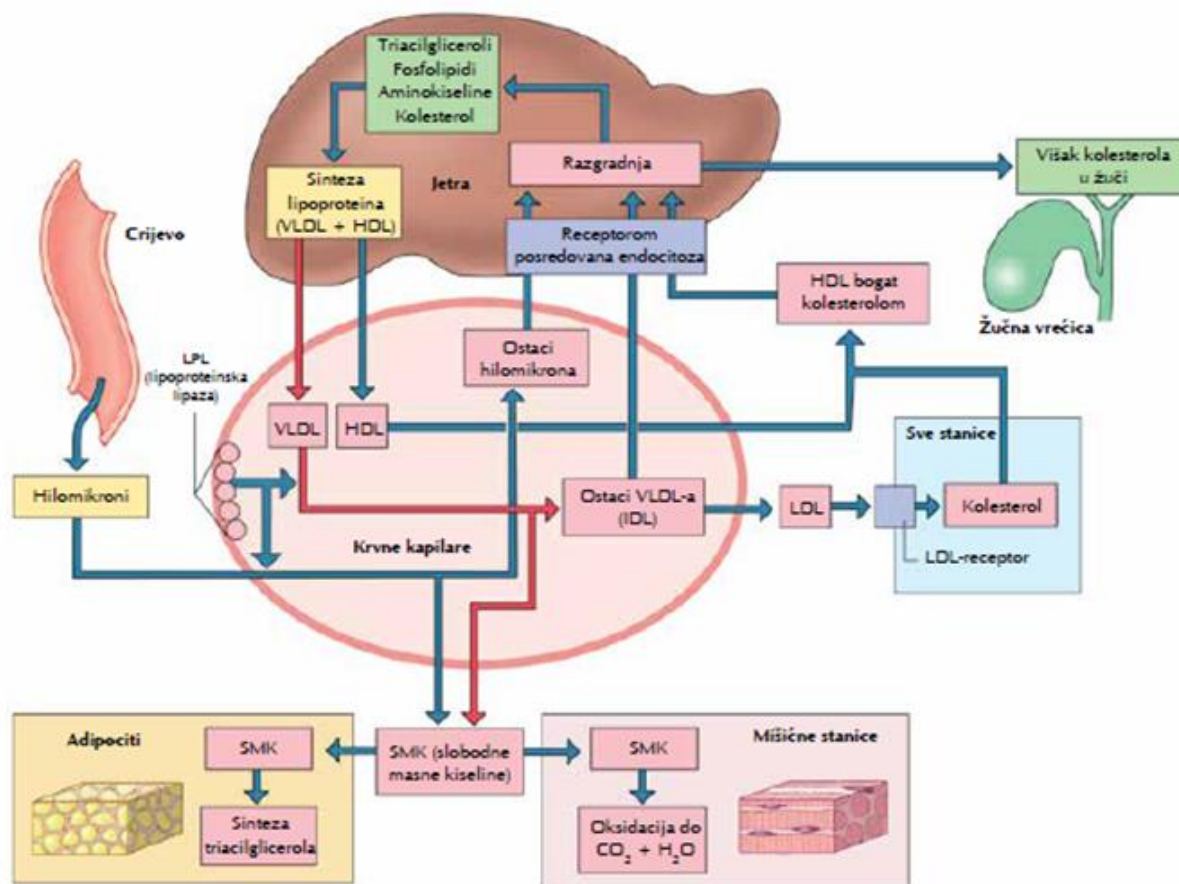
Prva linija obrane od slobodnih radikala je SOD, enzim koji katalizira dismutaciju superoksidnog radikala na molekulu kisika (oksidacija) i H₂O₂ (redukcija). Već je dulje vrijeme poznato da enzim GSH-Px katalizira redukciju H₂O₂ ili organskih hidroperoksida do vode ili alkohola, koristeći glutation kao reducens (BRIGELIUS-FLOHÉ i MAIORINO, 2013.). Neenzimska molekula glutation igra važnu ulogu u zaštiti stanica od oksidansa nastalih normalnim metabolizmom u stanici. GGT je uključen u metabolizam glutationa u prijenosu gama-glutamil funkcionalne skupine na različite akceptore (vodu, L-aminokiseline ili peptide), oslobađajući cistein kao proizvod za očuvanje unutarstanične homeostaze oksidacijskog stresa (WHITFIELD, 2001.). Na taj način GGT ima važnu funkciju u održavanju unutarstaničnog cisteina i glutationa.

2.3 Srčani metabolizam (masti i lipoproteini)

Srčani mišić je veoma oksidativno tkivo, a u normalnim fiziološkim uvjetima miokard svoje energetske potrebe namiruje prvenstveno β -oksidacijom masnih kiselina, koja se najvećim

dijelom odvija u mitohondrijima, a manjim dijelom u peroksisomima (SCHULZ, 1994.; VENTURA-CLAPIER i sur., 2003.). Srčane stanice zahtjevaju ATP kao primarni izvor energije za fiziološko provođenje kontrakcija i relaksacija mišića. Adekvatne koncentracije ATP-a moraju biti proizvod aerobnog metabolizma zbog limitiranog anaerobnog metabolizma u stanicama srca. Stanične koncentracije ATP-a će se znatno sniziti ukoliko izostaje kisik potreban za aerobnu proizvodnju. Srčane stanice koriste niz različitih supstrata za oksidativnu regeneraciju ATP-a, ovisno o njihovoj dostupnosti. Nekoliko sati nakon obroka srce utilizira masne kiseline (60-70%) te ugljikohidrate (~30%), prvenstveno glukozu. Laktat se koristi kao izvor energije najčešće za vrijeme intenzivnog kretanja. Za vrijeme ishemije i hipoksije, koronarna cirkulacija ne dostavlja metaboličke supstrate potrebne za aerobni metabolizam. U ovakvim uvjetima srce koristi glikogen kao supstrat za anaerobnu produkciju ATP-a i formiranje laktata. Ipak, koncentracija anaerobno proizvedenog ATP-a je znatno manja nego u aerobnim uvjetima. Nadalje, rezerve glikogena srčanog mišića su limitirane te se brzo potroše.

Srce prima lipide iz cirkulirajućih neesterificiranih (slobodnih) masnih kiselina (SMK) i esterificiranih masnih kiselina vezanih za lipoproteine. Većina lipida (osim steroidnih hormona i SMK) transportira se između tkiva u obliku lipoproteina, vrlo velikih molekula lipida i proteina koje su suspendirane u krvnoj plazmi ili limfi. Glavna podjela lipoproteina prema njihovoj gustoći i ultracentrifugiranju je na hilomikrone, lipoproteine vrlo male gustoće (engl. *very low density lipoproteins*; VLDL), lipoproteini male gustoće (engl. *low density lipoproteins*; LDL), lipoproteine srednje gustoće (engl. *intermediate density lipoproteins*; IDL) i lipoproteine velike gustoće (engl. *high density lipoproteins*; HDL). Hilomikronima se transportira kolesterol od crijeva do mišića i ostalih tkiva i organa kojima je potreban za stvaranje energije ili masti. VLDL molekule nastaju u jetri iz triacilglicerola i kolesterola koji nije iskorišten za stvaranje žučnih kiselina. Triacilglicerole u hilomikronima i VLDL u plazmi razgrađuje lipoproteinska lipaza koja se nalazi u endotelu mnogih organa i tkiva, ali je najzastupljenija u masnom tkivu, srčanom i skeletnom mišićju te mliječnoj žlijezdi (BRUSS, 2008.). Uloga LDL-a, koji je bogat kolesterolom, je transport kolesterola k stanicama. U stanice LDL ulazi endocitozom posredovanom receptorima te se razgrađuje lizosomskim enzimima. Kolesterol je na taj način dostupan za sintezu membrana u svim stanicama, za sintezu steroidnih hormona te za sintezu žučnih kiselina. Većina stanica je sposobna sintetizirati kolesterol, no proizvedene količine su im nedovoljne za podmirenje njihovih potreba, pa stanice trebaju preuzimati dodatne količine kolesterola iz LDL-a u krvi. Za razliku od LDL-a, HDL prikuplja višak kolesterola iz stanica i transportira ga do jetre, gdje se izlučuje u žuč.



Slika 2. Prikaz metabolizma lipoproteina u resorpcijskom razdoblju (SJAASTAD i sur., 2017.)

Triacilgliceroli čine najveći dio i prehrambenih lipida i lipidnih zaliha u tijelu. Lipidi kolesterol i fosfolipidi su glavni sastojci stanične membrane, ali također imaju i druge važne stanične funkcije. Prehrambeni lipidi se prenose iz crijevnih epitelih stanica u obliku hilomikrona i pohranjuju se kao triacilgliceroli, prvenstveno u masnom tkivu, ili se izravno koriste kao izvor energije nakon razgradnje pomoću lipoproteinske lipaze na masne kiseline. Krvne žile otcjepljuju i apsorbiraju triacilglicerol iz molekula IDL i tako povećavaju količinu kolesterola. Iz IDL molekula nastaju LDL molekule na dva načina: u 50% slučajeva je IDL metaboliziran pomoću enzima jetrene trigliceridne lipaze i preuzet od LDL molekula na površini stanica, a drugi je način da se dalje iz IDL molekula gube triacilgliceroli u krvotoku dok IDL molekule ne postanu LDL molekule s najvećom koncentracijom kolesterola. LDL molekule su glavni nosači kolesterola u krvi, a svaka molekula sadrži oko 1500 molekula esterificiranog kolesterola. Resorpcija LDL kolesterola se odvija preko LDL receptora na stanicama. Ukoliko dođe do neravnoteže, dolazi do pojave LDL molekula bez receptora u krvotoku. One oksidiraju i bivaju pojedene od makrofaga. Dolazi do mogućeg stvaranja

ateroskleroze koja vodi do srčanog udara i drugih ozbiljnih zdravstvenih poteškoća. Zato LDL-kolesterol zovu i „loš kolesterol“. Kod ateroskleroznih oštećenja pronađeno je nekoliko proizvoda oksidacije masnih kiselina, a mnogi od tih proizvoda se nalazi u obliku kolesterolskih estera. Glavni izvor lipida koji se nakupljaju tijekom ateroskleroze su lipoproteini niske gustoće (LDL), a najčešće oksidirani lipidi u LDL su kolesteril-linolat i kolesteril-arahidonat. HDL molekule su nosači kolesterola od tkiva i organskih sustava natrag u jetru za ekskreciju ili korištenje drugih organa pri sintezi hormona. Vjeruje se da je omjer HDL-a i LDL-a pokazatelj rizika koronarne bolesti srca – viši omjeri upućuju na manji rizik od ateroskleroze i koronarne bolesti. Visoka razina HDL kolesterola u krvi je povezana sa boljim zdravstvenim stanjem, dok je manjak povezan s oboljenjima u arterijama.

Narušavanje ravnoteže između unosa masnih kiselina u srce i njihove oksidacije dovodi do nakupljanja dugolančanih masnih kiselina, koje se ugrađuju u triacilglicerol i fosfolipide te mnogobrojne ostale lipide, a narušena regulacija unosa lipida ili unutarstaničnog metabolizma može imati važnu ulogu u nastanku srčanih oboljenja (GOLDBERG i sur., 2012.). Tako, se toksičnim smatra porast stanične koncentracije triacilglicerola, ali i ostalih lipida, kao što su diacilgliceroli, ceramidi i zasićene dugolančane masne kiseline (SCHULZE, 2009.). Nezasićene masne kiseline koje su esterificirane u fosfolipide veoma su osjetljive na oksidaciju, dok su zasićene masne kiseline puno otpornije. Pri oksidacijskom stresu nezasićenih masnih kiselina nastaju fosfolipidni radikali koji reagiraju s molekulama kisika i stvaraju peroksilne radikale.

2.4 Spolni hormoni (učinak na metabolizam i oksidacijski stres)

Spolni hormoni su proizvodi spolnih žlijezdi, odnosno jajnika i testisa. Sa stajališta kemijskog sastava spadaju u steroide, te su slične građe kod mužjaka i ženki. Estrogeni (estradiol, estron) i progesteron luče se iz jajnika, dok se androgeni (testosteron, androsteron) luče iz testisa. Manje količine androgenih hormona se luče i iz kore nadbubrežnih žlijezdi. Obje vrste spolnih hormona su zastupljene i u mužjaka i u ženki, ali u različitim koncentracijama. Kod mužjaka dominiraju androgeni, dok kod ženki dominiraju estrogeni i progesteron. Obje skupine spolnih hormona regulirane su povratnom spregom preko hipotalamusa i adenohipofize. Spolni hormoni su važni endogeni čimbenici koji utječu na proizvodnju antioksidansa i samim time utječu na oksidacijski stres. Pod utjecajem većih koncentracija luteinizirajućeg hormona (LH) u plazmi Leydigove stanice testisa pojačavaju sintezu i

izlučivanje testosterona (HODŽIĆ i HAMAMDŽIĆ, 2012.). Leydigove stanice sadrže enzime potrebne za prevođenje kolesterola u muške spolne hormone. Iako endokrini organi (kora nadbubrežne žlijezde, testisi, ovariji, placenta) sintetiziraju male količine kolesterola, za sintezu svojih steroida koriste najvećim dijelom kolesterol sintetiziran u jetri (BRUSS, 2008.). U svinja testisi proizvode i feromon androstenon. Testosteron igra važnu ulogu u razvoju spolnih organa tijekom embriogeneze i za vrijeme puberteta. Osim njegovih učinaka na spolne organe (primarna spolna obilježja), on utječe i na razvoj sekundarnih spolnih karakteristika. Testosteron povećava mišićnu masu smanjenjem razgradnje i povećanjem sinteze proteina. Kastrirani mužjaci zbog odsutstva testosterona sporije rastu i pohranjuju više masti u odnosu na nekastrirane mužjake. U krvi svih mužjaka su zastupljeni i estrogeni, a nerasti ih izlučuju u velikim količinama (HODŽIĆ i HAMAMDŽIĆ, 2012.).

U ženske spolne hormone spadaju estrogeni i progesteroni. Estradiol je glavni estrogen organizma. Estron i estrion su kemijski vrlo slični estradiolu, ali im je biološka reaktivnost slaba. Estrogen se sintetizira iz kolesterola u jajnicima, placenti, kori nadbubrežne žlijezde i Sertolijevim stanicama testisa. Kao intermedijarni proizvod sinteze nastaje progesteron koji difundira u krv iz žutog tijela jajnika i priprema maternicu za prihvatanje oplođene jajne stanice. Estrogeni imaju uloge u raznim aspektima reprodukcije, potiču rast folikula te signaliziraju njegovo sazrijevanje, pripremaju vanjske spolne organe, vaginu i uterus za kopulaciju i transport spermatozoida itd. Poput testosterona i oni utječu na stanični metabolizam, a ženke imaju veću sklonost odlaganju masti od mužjaka i teže razvijaju mišićnu masu.

3. MATERIJAL I METODE

U svrhu ovoga istraživanja životinje nisu dodatno žrtvovane, jer su korištene životinje čija je primarna namjena ekonomska iskoristivost i usmrćivanje na liniji klanja (sukladno Pravilniku o zaštiti životinja u vrijeme usmrćivanja NN 83/2011).

3.1. Držanje životinja

Istraživanje je načinjeno na 15 svinja pasmine švedski landras (5 nerasta, 5 ženki i 5 kastriranih mužjaka) koje su držane na svinjogojskoj farmi Kaznionice u Požegi, gdje su tovljene u svrhu ekonomske iskoristivosti svinjskoga mesa. Nakon odbića prasad je do četvrtog mjeseca starosti boravila u boksovima veličine 3 x 2 m ($0,42\text{m}^2/\text{životinji}$) uz pristup vodi i hrani *ad libitum* (nipl pojilice i hranilice), a hranjene su potpunom krmnom smjesom za odojke (Starter za prasad 20%-peletirani, TSH d.d., Čakovec). U dobi od šest mjeseci životinje su premještene u boksove veličine 2,5 x 4,3 m ($1,5\text{ m}^2/\text{životinji}$) uz pristup vodi *ad libitum* i podno hranjenje tri puta na dan potpunom krmnom smjesom za svinje u rastu i tovu do 60 kg tjelesne mase (BEK-1, TSH d.d., Čakovec). Od osmog mjeseca starosti pa sve do klanja životinje su držane u boksovima veličine 3 x 6 m ($2,6\text{ m}^2/\text{životinji}$) s prirodnom ventilacijom. Životinje su također imale pristup vodi *ad libitum* uz podno hranjenje tri puta na dan i to potpunom krmnom smjesom za svinje u rastu i tovu preko 60 kg tjelesne mase, a zadnji mjesec su hranjene dopunskom krmnom smjesom za tovnje i rasplodne svinje (Superkoncentrat za svinje 40%, TSH d.d., Čakovec) sa siliranim zrnem kukuruza.

3.2. Tretman životinja

U dobi od četiri mjeseca, pet nerasta je kastrirano tijekom rutinskog postupka kastracije svinja za tov i ekonomsku iskoristivost. Kastracija je načinjena uklanjanjem testisa (obostrana orhiektomija) uz korištenje acepromazina apliciranoga i.m. $0,2\text{ mg/kg}$ tjelesne mase. Po završetku zahvata životinjama je apliciran tetanus antitoksin (5 ml, s.c.) te kombinacija prokain benzilpenicilina i benzatin benzilpenicilina produljenog učinka ($0,07\text{ml/kg}$ tjelesne mase i.m.) kako bi spriječili sekundarne bakterijske infekcije. Svi korišteni pripravci dozvoljeni su za uporabu u Republici Hrvatskoj.

3.3. Uzorkovanje i analize

Po završetku tova uzeti su uzorci krvi punkcijom *v. jugularis* u epruvete bez antikoagulansa (Vacutainer BD tube sa SSt II gelom, Plymouth, UK). Nakon zgrušavanja krvi uzorci su centrifugirani na 3500 okretaja/min tijekom 10 minuta. Serumi su transportirani do laboratorija na + 4°C gdje su pohranjeni na – 20 °C tijekom 24 sata, a potom na – 80°C do analize. U dobivenim uzorcima krvnoga seruma određene su aktivnosti glutation peroksidaze (GSH-Px; EC 1.11.1.9), glutation reduktaze (GSH-RD; EC 1.6.4.2), superoksid dismutaze (SOD; EC 1.15.1.1), gama glutamil transferaze (GGT; EC 2.3.2.2) i laktat dehidrogenaze (engl. *lactate dehydrogenase*, LDH; EC 1.1.1.27) te koncentracije triacilglicerola, fofsolipida, kolesterola, HDL-kolesterola, LDL-kolesterola, slobodnih masnih kiselina (SMK) i malondialdehida (MDA).

Klinički zdrave spolno zrele životinje zaklane su u klaonici Papuk. d.o.o., Požega, u dobi od 10 mjeseci i prosječne tjelesne mase od 147 ± 20 kg. Nakon žrtvovanja životinja na liniji klanja uzeti su uzorci srčanoga mišića (lijevi ventrikul) koji su odmah stavljeni na led, osušeni papirnatim ručnikom, uklonjeno je masno i vezivno tkivo, a uzorci mišića narezani na komadiće težine oko jednoga grama stavljeni su u eppendorf epruvete od 2,5 mL i na led. Uzorci srčanoga mišića transportirani su na ledu do laboratorija gdje su pohranjeni na – 20 °C tijekom 24 sata, a nakon toga su pohranjeni na – 80 °C do analize.

Uzorci tkiva su homogenizirani u 0,14 M KCl (kalijev klorid) u omjeru 1:5 (w/v) s teflon–staklo Schüthomogen plus homogenizatorom (Schütt labortechnik, Njemačka) pri 2800 okr/min uz hlađenje ledom. Uzorci srčanoga mišića homogenizirani su 90 sekundi. Homogenati tkiva su centrifugirani pomoću centrifuge Sigma 3 K 15 (Sigma, Njemačka) pri 20000 g tijekom 30 minuta pri 4 °C, a u dobivenom supernatantu određene su aktivnosti GSH-Px, GSH-RD, SOD, GGT i LDH te koncentracije triacilglicerola, fofsolipida, kolesterola i MDA.

U dobivenim uzorcima aktivnosti GSH-Px, GSH-RD i SOD te koncentracije SMK i LDL-kolesterola određene su spektrofotometrijski gotovim kompletima tvrtke "Randox" (Irska, UK) na automatskom analizatoru SABA 18 (AMS, Italija) prema uputama proizvođača. Aktivnost GGT i LDH te koncentracije triacilglicerola, kolesterola i HDL-kolesterola određene su spektrofotometrijski gotovim kompletima tvrtke Dijagnostika (Sisak, Hrvatska), također prema uputama proizvođača. Koncentracija fosfolipida određena je gotovim kompletom tvrtke bioMerieux Inc. (SAD) na automatskom analizatoru SABA 18 (AMS, Italija) prema uputama

proizvođača. Koncentracije ukupnog malondialdehida (MDA) izmjerene su metodom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (De Grotto i sur., 2007.) na TSP-130 sustavu (Thermo Separation Products, Inc, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, SAD). Dobivene vrijednosti u krvnom serumu izražene su po jednoj litri, a u srčanom mišiću po gramu vlažnog tkiva.

3.4. Statistička obrada rezultata

Dobiveni rezultati obrađeni su pomoću računalnog programa za analizu podataka STATISTIKA, 12 (StatSoft, Inc. 2013.). Normalnost raspodjele podataka provjerena je Shapiro Wilk W testom. Za svaku kontinuiranu varijablu izračunat je medijan (M) kao mjera centralne tendencije i vrijednost koja niz vrijednosti poredan po veličini dijeli na dva jednaka dijela te donji i gornji kvartil kao mjeru disperzije ili stupnja varijabilnosti. Značajnost razlika između skupina mjerenih pokazatelja s nepravilnom raspodjelom podataka analizirana je neparametrijskim Kruskal-Wallis testom. Razlike se smatraju statistički značajnim ako je $p < 0,05$.

4. REZULTATI

Dobiveni rezultati pokazatelja oksidacijskog stresa i metabolizma masti u krvnom serumu i miokardu (lijevi ventrikul) nerasta, kastrata i ženki svinja po završetku tova prikazani su u Tablici 1. i Tablici 2.

Tablica 1. Vrijednosti biokemijskih pokazatelja oksidacijskoga stresa i metabolizma masti u krvnom serumu spolno zrelih nerasta, kastrata i ženki svinja.

POKAZATELJI	NERASTI	KASTRATI	ŽENKE
GSH-Px (U/L)	4331 ^{a,b} 4062 - 4805	5207 5198 - 5313	5187 4493 - 5265
GSH-RD (U/L)	118,17 116,61 - 125,54	144,34 ^c 130,37 - 195,30	110,22 101,99 - 126,39
SOD (U/L)	80,05 40,40 – 216,90	26,65 9,70 – 284,70	43,30 29,60 – 222,60
GGT (U/L)	34,07 23,40 - 42,63	20,67 ^c 17,68 - 24,60	43,11 40,33 - 47,96
LDH (U/L)	719,00 549,00 – 843,00	752,50 ^c 697,00 - 870,00	899,50 801,00 – 924,00
Triacilglicerol (mmol/L)	0,11 0,07 - 0,43	0,23 0,08 - 0,31	0,28 0,14 - 0,53
Fosfolipidi (mmol/L)	1,03 ^b 1,02 - 1,14	1,23 ^c 1,14 - 1,36	1,66 1,55 - 1,90
Kolesterol (mmol/L)	2,07 ^b 2,00 - 2,16	2,46 2,25 - 2,93	3,05 2,89 - 3,29
HDL Kolesterol (mmol/L)	1,25 ^a 1,06 - 1,51	1,66 1,47 - 1,78	1,68 1,32 - 1,72
LDL Kolesterol (mmol/L)	0,17 0,13 - 0,25	0,18 0,16 - 0,23	0,16 0,13 - 0,17
SMK (mmol/L)	0,60 0,37 - 1,18	0,36 0,25 - 0,41	0,46 0,36 - 0,50
MDA (μmol/L)	4,25 3,85 - 4,35	4,70 ^c 4,51 - 4,83	3,86 3,49 - 4,54

Rezultati su prikazani kao medijan te interkvartilni raspon (donji i gornji kvartil: 25'-75').

Značajnost razlika na razini $p < 0,05$: ^a između nerasta i kastrata, ^b između nerasta i ženki i ^c između kastrata i ženki.

Iz rezultata prikazanih u Tablici 1. vidljivo je da su se istraživani pokazatelji metabolizma masti i oksidacijskog stresa u krvnom serumu razlikovali ovisno o spolu životinja. Najniža aktivnost GSH-Px u krvnom serumu izmjerena u nerasta (4331 U/L) dok su aktivnosti GSH-Px u krvnom serumu kastrata i ženki bile približno sličnih vrijednosti (u kastrata su iznosile 5207 U/L, a u ženki 5187 U/L). Uspoređujući međusobno dobivene rezultate aktivnost

GSH-Px u krvnom serumu nerasta bila je značajno niža ($p < 0,05$) od onih izmjerenih u krvnom serumu kastrata i ženki. Pri tome su vrijednosti GSH-Px u serumu nerasta bile za oko 17 % niže od onih izmjerenih u serumu kastrata i ženki. Najviša aktivnost GSH-RD u krvnom serumu izmjerena je u kastrata (144,34 U/L), dok su aktivnosti u serumu nerasta (118,17 U/L) i ženki (110,22 U/L) bile približno sličnih vrijednosti. Istovremeno, aktivnost GSH-Px u serumu kastrata bila je značajno viša ($p < 0,05$) od onih izmjerenih u serumu ženki, i to za oko 24 %. Najviša je izmjerena aktivnost GGT-a bila u krvnom serumu ženki (43,11 U/L), zatim su nešto niže vrijednosti bile u serumu nerasta (34,07 U/L), dok su najniže vrijednosti izmjerene u kastrata (20,67 U/L). Usporedbom dobivenih vrijednosti značajna razlika ($p < 0,05$) utvrđena je između ženki i kastrata, pri čemu su vrijednosti u ženki bile za oko 52 % više. Aktivnost LDH u krvnom serumu se također razlikovala ovisno o spolu životinja te je najviša aktivnost zabilježena u serumu ženki (899,50 U/L), dok su vrijednosti u serumu nerasta (719,00 U/L) i kastrata (752,50 U/L) bile približno slične. Aktivnost LDH u serumu ženki bila je značajno viša ($p < 0,05$) od onih u serumu kastrata i to za oko 16,34 %.

Izmjerena koncentracija fosfolipida najviše je iznosila u krvnom serumu ženki (1,66 mmol/L), zatim u kastrata (1,23 mmol/L), a najniža je koncentracija zabilježena u serumu nerasta (1,03 mmol/L). Uspoređujući međusobno dobivene vrijednosti, ženke su imale značajno višu ($p < 0,05$) koncentraciju fosfolipida u serumu od kastrata (za oko 26 %) i nerastova (za oko 38 %). Najviša koncentracija kolesterola u serumu od 3,05 mmol/L je izmjerena kod ženki, zatim u serumu kastrata (2,46 mmol/L), a najniža je koncentracija izmjerena u nerasta (2,07 mmol/L). Pri tome su utvrđene značajno više ($p < 0,05$) vrijednosti koncentracije kolesterola u serumu ženki, koje su bile za oko 32 % više od onih u serumu nerasta. Koncentracije HDL kolesterola u serumu ženki (1,68 mmol/L) i nerasta (1,66 mmol/L) bile su približno slične i nisu se značajnije razlikovale. Najniža koncentracija HDL-kolesterola izmjerena u serumu kastrata (1,25 mmol/L), a vrijednosti su bile značajno niže ($p < 0,05$) od onih u serumu nerasta (za oko 26 %). Najviša koncentracija MDA izmjerena je u serumu kastrata (4,70 μ mol/L), zatim u serumu nerasta (4,25 μ mol/L), a najniže koncentracije izmjerene su u serumu ženki (3,86 μ mol/L). Usporedbom dobivenih vrijednosti utvrđena je značajno viša ($p < 0,05$) koncentracija MDA u serumu kastrata nego u ženki, a ta je razlika približno iznosila 18 %.

Aktivnosti SOD-a te koncentracije triacilglicerola, LDL-kolesterola i SMK u krvnom serumu nerasta, kastrata i ženki bile su sličnih vrijednosti i nisu se značajno razlikovale ($p > 0,05$).

Iz rezultata prikazanih u Tablici 2. vidljivo je da su se istraživani pokazatelji metabolizma masti i oksidacijskog stresa u srčanom mišiću također razlikovali ovisno o spolu životinja.

Tablica 2. Vrijednosti biokemijskih pokazatelja oksidacijskoga stresa i metabolizma masti u srčanom mišiću (lijevi ventrikul) nerasta, kastrata i ženki svinja po završetku tova.

POKAZATELJI	NERASTI	KASTRATI	ŽENKE
GSH-Px (U/g tkiva)	2,63 2,05 - 3,78	2,34 2,31 - 2,42	2,93 2,71 - 3,16
GSH-RD (U/g tkiva)	1,01 ^a 0,75 - 1,18	1,19 ^b 0,98 - 1,40	1,48 1,44 - 1,54
SOD (U/g tkiva)	446,95 412,65 - 480,14	450,80 447,16 - 471,58	606,97 508,87 - 665,12
GGT (U/g tkiva)	427,11 385,59 - 490,88	412,28 353,95 - 448,86	596,17 525,98 - 625,83
LDH (U/g tkiva)	34,29 ^a 28,46 - 40,74	28,56 ^b 24,81 - 38,26	51,70 37,47 - 66,24
Triacilglicerol (μmol/g tkiva)	5,94 4,04 - 7,36	4,48 3,80 - 5,06	4,76 3,72 - 5,31
Fosfolipidi (μmol/g tkiva)	1,16 0,78 - 1,24	0,91 ^b 0,71 - 1,05	1,30 1,22 - 1,34
Kolesterol (μmol/g tkiva)	0,73 0,52 - 0,86	0,65 0,61 - 0,90	0,82 0,61 - 0,83
MDA (nmol/g tkiva)	43,69 38,53 - 58,07	50,56 ^b 39,02 - 52,17	33,42 32,38 - 38,87

Rezultati su prikazani kao medijan te interkvartilni raspon (donji i gornji kvartil: 25'-75'). Značajnost razlika na razini $p < 0,05$: ^a između nerasta i ženki i ^b između kastrata i ženki.

Najviša aktivnost GSH-RD izmjerena je u miokardu ženki (1,48 U/g tkiva), zatim u miokardu kastrata (1,19 U/g tkiva), a najniža aktivnost izmjerena je u miokardu nerasta (1,01 U/g tkiva). Usporedbom dobivenih rezultata utvrđena je značajno viša ($p < 0,05$) aktivnost GSH-RD u miokardu ženki u odnosu na neraste (oko 32 %) i kastrate (oko 19 %). Pri mjerenju aktivnosti LDH u miokardu također su zabilježene statistički značajne razlike s obzirom na spol svinja. Tako su vrijednosti bile značajno više u ženki (51,70 U/g tkiva) u odnosu na neraste (34,29 U/g tkiva) i kastrate (28,56 U/g tkiva) i to na razini značajnost $p < 0,05$.

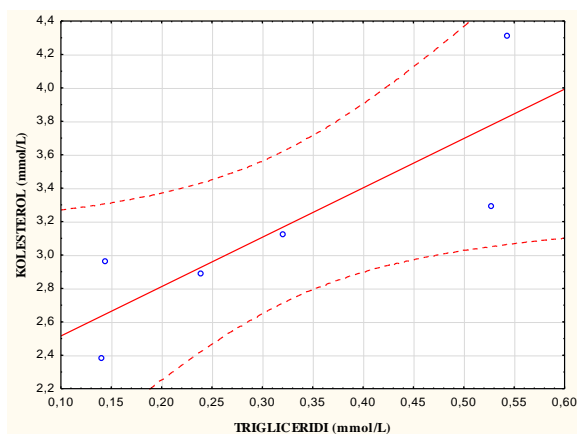
Izmjerena koncentracija fosfolipida u miokardu ženki također je bila najviša (1,30 μmol/g tkiva), a najniža u miokardu kastrata (0,91 μmol/g tkiva). Te vrijednosti fosfolipida u ženki bile su za oko 24 % više i značajno su se razlikovale ($p < 0,05$). Koncentracija fosfolipida u miokardu nerasta (1,16 μmol/g tkiva) nije se značajnije razlikovala od onih u kastrata i ženki ($p > 0,05$).

Najvišu koncentraciju MDA u miokardu su imali kastrati (50,56 nmol/g tkiva), dok je najniža koncentracija izmjerena u miokardu ženki (33,42 nmol/g tkiva), a te razlike od oko 34 % su bile i statistički značajne ($p < 0,05$). Koncentracije MDA u miokardu nerasta (43,69 nmol/g tkiva) nije se značajnije razlikovala od koncentracije u miokardu kastrata i ženki ($p > 0,05$). Aktivnosti GSH-Px i SOD-a te koncentracije GGT-a, triaciglicerola i kolesterola u lijevom ventrikulu nerasta, kastrata i ženki nisu se značajnije razlikovale ($p > 0,05$).

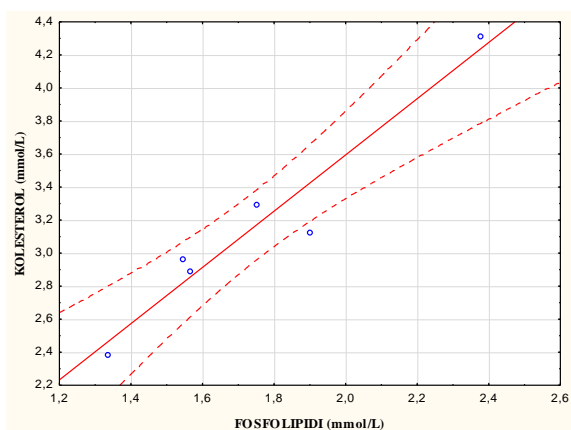
5. RASPRAVA

Kardiovaskularne bolesti se danas smatraju vodećim uzrokom smrti u razvijenim zemljama i pokazuju značajne razlike između spolova (BABIKER i sur., 2002.), a većina kardiovaskularnih bolesti se povezuje sa staničnim i tkivnim oštećenjima nastalim zbog dugotrajnog izlaganja oksidacijskom stresu. Jedan od regulacijskih čimbenika slobodnih kisikovih radikala su spolni hormoni (steroidi), od kojih su estrogene prirodni antioksidansi (BARP i sur., 2002.). Tako se smatra da estrogene imaju važnu zaštitnu ulogu zbog uočenog porasta krvožilnih oboljenja kod žena u menopauzi. Nadalje, istraživanja na životinjama su pokazala da estrogene imaju razne zaštitne učinke na krvožilnu funkciju i srčani rad (MCCULLOUGH i HURN, 2003.; ORSHAL i KHALIL, 2004.; TURGEON i sur., 2004.).

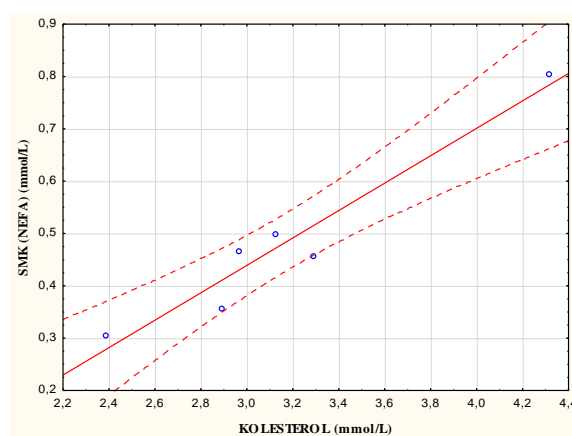
U ovom radu su istražene spolne razlike pokazatelja metabolizma masti i oksidacijskog stresa u krvnom serumu i srčanom mišiću svinja po završetku tova, a prema dobivenim rezultatima vrijednosti istraživanih pokazatelja razlikovale su se ovisno o spolu životinja. Tako su u krvnom serumu ženki utvrđene više ($p > 0,05$) vrijednosti GGT-a, LDH, triacilglicerola i HDL-kolesterola te značajno više ($p < 0,05$) vrijednosti ukupnog kolesterola, fosfolipida i GSH-Px u odnosu na vrijednosti dobivene u krvnom serumu nerasta. Istovremeno, vrijednosti GSH-RD, SOD-a, LDL-kolesterola, SMK i MDA u serumu ženki bile su niže ($p > 0,05$) od onih u serumu nerasta. Povišena razina triacilglicerola u krvi je povezana s nastankom ateroskleroze, a time i s bolestima srca i zatajenjem srčanoga rada. Povišena razina triacilglicerola u krvi je često popraćena povišenom razinom kolesterola u krvi, što je utvrđeno i u ovom istraživanju gdje je triacilglicerol pozitivno korelirao ($r = 0,830280$) s kolesterolom u serumu ženki (slika 1a.). Nadalje, u krvnom serumu ženki utvrđena je pozitivna korelacija kolesterola i s ostalim mjenim masnim tvarima, fosfolipidima ($r = 0,965549$; slika 1b.) i SMK ($r = 0,967906$; slika 1c.). Razlika izmjerenih fosfolipida između ženskih i muških životinja iznosila je 37,72%, što ukazuje da ženke imaju višu koncentraciju fosfolipida u krvnom serumu.



a)



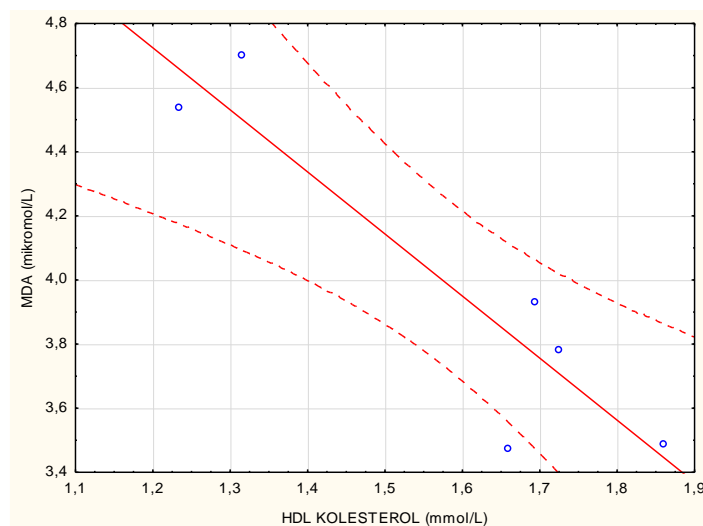
b)



c)

*Slika 3. Korelacije masnih tvari u krvnom serumu spolno zrelih ženki svinja između:
a) kolesterola i triacilglicerola; b) kolesterola i fosfolipida; c) kolesterola i SMK*

U razvoju kardiovaskularnih bolesti, osim razine ukupnog kolesterola, važnu ulogu ima omjer LDL-a i HDL-a u krvi. Iz razloga što su LDL glavni izvor lipida koji se nakupljaju u aterosklerozi, tako povećanje LDL:HDL omjera predstavlja povećan rizik od razvoja krvožilnih, ali i srčanih oboljenja. U ovom su istraživanju ženke imale najpovoljniji omjer LDL:HDL kolesterola, a utvrđena je i negativna korelacija ($r = -0,917217$) HDL-kolesterola s MDA (slika 2). Najnepovoljniji omjer LDL-a i HDL-a imali su nerasti.



Slika 4. Korelacija između HDL-kolesterola i MDA u krvnom serumu spolno zrelih ženki svinja.

Na osnovi dobivenih viših vrijednosti navedenih masnih tvari u serumu ženki moglo bi se pretpostaviti da će ženke češće oboljevati od krvožilnih bolesti, ne samo zbog veće mogućnosti taloženja lipida na krvne stijenke potencirajući bolesti poput ateroskleroze, masne embolije i infarkta, već i zbog povećanog rizika od lipidne peroksidacije koja može rezultirati oksidacijskim stresom i popratnim oštećenjima. No, studije i kliničko iskustvo pokazuju upravo suprotno. Time se postavlja pitanje utjecaja spola, odnosno spolnih hormona na metabolizam lipida i njihovo antioksidativno djelovanje. Tako egzogeni estrogen modulira oksidaciju LDL-a, spaja slobodne radikale i snižava koncentraciju kolesterola u krvi (KUHL, 1994.; MAFFEI i DE CATERINA, 1996.).

Poznato je da GSH-Px zajedno sa SOD čini glavni obrambeni mehanizam organizma protiv oksidacijskog stresa, pri čemu GSH-Px katalizira reakciju redukcije vodikovog peroksida ili organskih hidroperoksida u vodu i odgovarajući alkohol, uz oksidaciju reduciranog glutationa (GSH) kao donora vodika (BRIGELIUS-FLOHE i MAIORINO, 2013.). Oksidirani glutation (GSSG) se zatim pomoću NADPH i enzima GSH-RD prevodi u GSH i time se krug zatvara (LJUBIČIĆ i sur., 2013.). U ovom istraživanju aktivnost GSH-Px izmjerena u krvnom serumu ženki bila je za 16,5% viša nego u nerasta ($p < 0,05$). S obzirom na to da aktivnost SOD-a povećava stvaranje H_2O_2 , zaštitu od slobodnih radikala pospješuje povećana aktivnost GSH-Px te dostupnost glutationa. No, prilikom procjene sposobnosti organizma da se zaštiti od oksidativnih oštećenja često se koristi i omjer aktivnosti antioksidacijskih enzima, kao što je omjer GSH-Px:SOD. U ovom istraživanju, povoljniji omjer GSH-Px:SOD utvrđen je u serumu ženki nego u serumu nerasta, a bolji omjer GSH-Px:SOD u serumu ženki upućuje na bolju

antioksidacijsku zaštitu. GGT sudjeluje u metabolizmu glutationa, regulaciji homeostaze i oksidacijskog stresa, te stoga najviša izmjerena aktivnost GGT-a u serumu ženki upućuje na dostupnost GSH kao reducensa u antioksidacijskim procesima, a niže vrijednosti GSH-RD izmjerene u serumu ženki mogle bi ukazivati na učinkovitije obnavljanje GSH potrebnog za djelovanje GSH-Px.

No, iako su IDE i sur. (2002.), koji su proveli istraživanje na ženama prije menopauze te muškarcima slične dobi, dobili nešto drugačije rezultate od naših, također muškarcima pripisuju veću sklonost oksidacijskom stresu od žena. Autori više vrijednosti GSH-Px u krvnoj plazmi muškaraca pripisuju kompenzacijskom odgovoru na povećano stvaranje ROS-a, odnosno intenzivnijim metaboličkim procesima u muškaraca nego u žena, koji mogu doprinijeti oksidacijskom stresu.

Enzim LDH se u fiziološkim uvjetima nalazi i u životinjskim stanicama i u krvi, a povišena razina LDH u krvi povezuje se s tkivnim oštećenjima. U ovom istraživanju najvišu aktivnost LDH u serumu su imale ženke, no iako su promjene enzima u serumu korisni pokazatelji tkivnih oštećenja, porast aktivnosti enzima ovisi i o koncentraciji enzima u stanicama te brzini odstranjivanja iz krvi.

Jedan od konačnih proizvoda lipidne peroksidacije je malondialdehid (MDA) koji služi kao biljeg oksidacijskog stresa. Njegova koncentracija u uzorcima indicira veličinu oksidacijskog stresa, odnosno razvojem oksidacijskog stresa se povećava i sama koncentracija MDA. U oba slučaja, u serumu i miokardu, najniža razina MDA je izmjerena u ženki, dok je u kastrata bila najviša, a vrijednosti su bile i značajno više od onih u ženki ($p < 0,05$). Vrijednosti MDA u krvnom serumu i miokardu nerasta bile su više od vrijednosti u serumu ženki, ali niže od onih u kastrata. Kako svi spolni hormoni, a estrogeni najviše, imaju važnu ulogu u regulaciji oksidacijskog stresa, bilo je za očekivati da će ženske životinje imati najmanju razinu MDA, kao što su to potvrdili rezultati ovoga istraživanja.

Uspoređujući rezultate istraživanih pokazatelja u krvnom serumu kastrata s onima u serumu nerasta i ženki također su utvrđene značajne razlike. U krvnom serumu kastrata izmjerene su značajno više ($p < 0,05$) vrijednosti GSH-Px i HDL-kolesterola u odnosu na vrijednosti dobivene u serumu nerasta te značajno više ($p < 0,05$) vrijednosti GSH-RD i MDA u odnosu na one u serumu ženki. Istovremeno, kastrati su u serumu imali više LDL-kolesterola i od nerasta i od ženki. Najviše vrijednosti MDA izmjerene u serumu kastrata upućuju na odvijanje intenzivnijih procesa lipidne peroksidacije.

Oksidacijski stres ima direktan učinak na staničnu strukturu i funkciju te može aktivirati signalne molekule koje su uključene u remodeliranje miokarda i zatajenje srca (TSUTSUI i sur., 2009.). Iako se mitohondriji smatraju jednim od glavnih mjesta nastanka ROS-a i sami mitohondriji mogu biti oštećeni od strane ROS-a (TSUTSUI i sur., 2009.). Budući da je miokard veoma oksidativni mišić koji svoje energetske potrebe namiruje prvenstveno oksidacijom masnih kiselina u mitohondrijima, zbog mnogobrojnih mitohondrija izložen je većem stvaranju reaktivnih kisikovih spojeva i njihovom štetnom djelovanju (ZHANG i sur., 2011.). Tijekom normalnih fizioloških procesa 70 do 90% masnih kiselina koje su ušle u stanicu pretvara se u acilkarnitin i odmah oksidira, dok se preostalih 10 do 30% masnih kiselina pohranjuje u stanici kao triacilglicerol. Pohrana većih količina triacilglicerola u miokardu te toksični međuproizvodi narušenog metabolizma masti povezuju se sa zatajivanjem srca (SCHULZE, 2009.). Oksidacijom masnih kiselina, dismutacijom superoksidnog radikala te djelovanjem oksidaze D-aminokiselina, ksantin i urat oksidaze stvara se vodikov peroksid kojeg uklanjaju antioksidacijski enzimi GSH-Px i katalaza. Vezano uz navedeno, u ovom istraživanju smo u uzorku miokarda lijevog ventrikula mjerili vrijednosti GSH-Px, GSH-RD, LDH, GGT, SOD, triacilglicerola, fosfolipida, kolesterola i MDA. Iako se u srčanom mišiću manji broj istraživanih pokazatelja značajnije razlikovao dobiveni rezultati ipak upućuju na spolne razlike, kako pokazatelja metabolizma masti tako i oksidacijsko-antioksidacijskih procesa. Tako su u miokardu lijevog ventrikula ženki izmjerene značajno više ($p < 0,05$) vrijednosti GSH-RD i LDH u odnosu na one u miokardu nerasta i kastrata te značajno više ($p < 0,05$) vrijednosti fosfolipida u odnosu na one u kastrata. Istovremeno, u miokardu kastrata izmjerene su najviše vrijednosti pokazatelja lipidne peroksidacije, odnosno MDA, a vrijednosti su bile i značajno više ($p < 0,05$) od onih u miokardu ženki.

Prema rezultatima CHEN-a i sur. (2011.) koji su svoja istraživanja proveli na miševima, ženke imaju nižu aktivnost GSH-RD u miokardu od mužjaka. KŁAPCINIŃSKA i sur. (2008.) također uspoređuju aktivnosti GSH-Px, GSH-RD i SOD enzima u lijevom ventrikulu kod mužjaka i kastriranih mužjaka štakora, a prema njihovim rezultatima kastracija znatno smanjuje aktivnost ovih antioksidativnih enzima. U ovom radu nisu utvrđene značajnije razlike vrijednosti istraživanih pokazatelja u miokardu između nerasta i kastrata, te bi se moglo zaključiti da imaju sličan intenzitet metabolizma masti i oksidacijskih procesa.

Miokard sadrži funkcionalne receptore za estrogene koji reguliraju ekspresiju gena, čime se očituje djelovanje estrogena na samome srcu. Osim njihovih krvožilnih i miokardijalnih učinaka, estrogeni su poznati antioksidansi. U svojoj građi estrogeni sadrže fenolnu skupinu

koja inaktivira kisikove slobodne radikale. Nadalje, estrogene mogu inducirati ekspresiju antioksidacijskih enzima stimulacijom antioksidativnog obrambenog sustava (BAP i sur., 2002.). Prema novijim istraživanjima i nedostatak testosterona također potiče oksidacijski stres u miokardu sisavaca, što se pripisuje prisustvu specifičnih androgenih receptora u kardiomiocitima koji imaju važnu ulogu u funkciji srca, oštećenjima miokarda i regulaciji redoks stanja u srcu (ZHANG i sur., 2011.). Kao što to navode REN i KELLY (2009.) muški spolni hormoni također imaju važnu ulogu u cjelokupnoj regulaciji funkcije kardiovaskularnog sustava, koju ne treba podcijeniti.

Budući da je u oba istraživana tkiva (krvnom serumu i miokardu) najviša razina MDA izmjerena u kastrata, te da svi steroidi sudjeluju u regulaciji oksidacijskog stresa, za očekivati je bilo da će oksidacijski stres biti najizraženiji u kastriranim životinjama. Odnosno, budući da estrogen od svih spolnih hormona igra najvažniju ulogu u regulaciji oksidacijskog stresa, te da koncentracija MDA u uzorcima indicira veličinu oksidacijskog stresa, bilo je za očekivati da će ženske životinje imati najmanju razinu MDA, što su i potvrdili rezultati ovoga istraživanja.

6. ZAKLJUČCI

Koncentracije istraživanih pokazatelja metabolizma masnih tvari i pokazatelja oksidacijskog stresa u krvnom serumu i miokardu svinja razlikovale su se ovisno o spolu životinja, a povišene koncentracije lipida u serumu nisu rezultirale intenzivnijim procesima lipidne peroksidacije.

Povoljniji omjer LDL:HDL kolesterola uz povoljniji omjer antioksidacijskih enzima GSH-Px:SOD u krvnom serumu, te najmanja koncentracija pokazatelja lipidne peroksidacije (MDA) u krvnom serumu i miokardu ženki upućuje na veću otpornost ženskih životinja na oksidacijski stres, što bi se moglo pripisati antioksidacijskom učinku estrogena.

Najviše izmjerene vrijednosti MDA u serumu i miokardu kastrata upućuju na odvijanje intenzivnih prooksidacijskih procesa te na njihovu veću sklonost oksidacijskom stresu od ženki i nerasta.

Kako se oksidacijski stres povezuje ne samo sa zatajivanjem srca, već i sa različitim kardiovaskularnim bolestima uključujući aterosklerozu, hipertenziju i anginu pectoris, kompleksnost spolnih razlika u nastanku oksidacijskog stresa i kardiovaskularnih bolesti treba biti prepoznata kao važan čimbenik istraživanja, ne samo u temeljnim već i u kliničkim znanostima.

7. LITERATURA

1. BABIKER, F. A., L. J. DE WINDT, M. VAN EICKELS, C. GROHE, R. MEYER, P. A. DOEVENDANS (2002): Estrogenic hormone action in the heart: regulatory network and function. *Cardiovasc. Res.* 53, 709-719.
2. BARP, J., A. S. R. ARAÚJO, T. R. G. FERNANDES, K. V. RIGATTO, S. LLESUY, A. BELLÓ-KLEIN, P. SINGAL (2002): Myocardial antioxidant and oxidative stress changes due to sex hormones. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 35, 1075-1081.
3. BRIGELIUS-FLOHÉ, R., M. MAIORINO (2013): Glutathione peroxidases, *Biochim. Biophys. Acta* 1830, 3289-3303.
4. BRUSS, M. L. (2008): Lipids and ketones. U: *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6th ed., (Kaneko J. J., J. W. Harvey, M. L. Bruss, Eds.). Elsevier Inc., San Diego, pp. 81-115.
5. CATALÁ, A. (2006): An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *Int. J. Biochem. Cell B.* 38, 1482-1495
6. CHEN, Y., L. JI, T. LIU, Z. WANG (2011): Evaluation of gender-related differences in various oxidative stress enzymes in mice, *Chinese J. Physiol.* 54(6): 385-390.
7. EPEL, E. S. (2009): Psychological and metabolic stress: A recipe for accelerated cellular aging?, *Hormones* 8, 7-22.
8. GARNIER, A., D. FORTIN, C. DELOMÉNIE, I. MOMKEN, V. VEKSLER, R. VENTURA-CLAPIER (2003): Depressed mitochondrial transcription factors and oxidative capacity in rat failing cardiac and skeletal muscles. *J. Physiol.* 551, 491-501.
9. GOLDBERG, I. J., C. M. TRENT, P. C. SCHULZE (2012): Lipid metabolism and toxicity in the heart. *Cell Metab.* 15, 805-812.
10. HEISTAD, D.D. (2006): Oxidative Stress and Vascular Disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 26, 689-695.
11. HODŽIĆ, A., M. HAMAMDŽIĆ (2012): Endokrinologija domaćih životinja. Veterinarski fakultet Sarajevo, Sarajevo, pp. 132-159.
12. IDE, T., H. TSUTSUI, N. OHASHI, S. HAYASHIDANI, N. SUEMATSU, M. TSUCHIHASHI, H. TAMAI, A. TAKESHITA (2002): Greater oxidative stress in

- healthy young men compared with premenopausal women. *Arterioscl. Throm. Vasc* 22, 438-442.
13. KŁAPCIŃSKA, B., S. JAGSZ, E. SADOWSKA-KRĘPA, J. GÓRSKI, K. KEMPA, J. LANGFORT (2008): Effects of Castration and Testosterone Replacement on the Antioxidant Defense System in Rat Left Ventricle. *J. Physiol. Sci.* 58, 173-177.
 14. KUHL, H. (1994): Cardiovascular effects and estrogen/gestagen substitution therapy. *Ther. Umsch.* 51, 748-754.
 15. LJUBIČIĆ, I., L. RADIN, I. ŽURA ŽAJA, J. PEJAKOVIĆ HLEDE, S. MILINKOVIĆ-TUR (2013): Slobodni radikali, oksidacijski stres i parazitarne bolesti. *Veterinarska stanica* 44, 285 - 297.
 16. MAFFEI, S., R. DE CATRINA (1996): Hormone replacement therapy and cardiovascular risk. *G. Ital. Cardiol.* 26, 899-940.
 17. MCCULLOUGH, L. D., P. D. HURN (2003): Estrogen and ischemic neuroprotection: an integrated view. *Trends Endocrin. Met.* 14, 228-235.
 18. MILINKOVIĆ TUR, S. (2011): Fiziologija srca i krvožilnog sustava domaćih životinja. http://www-staro.vef.unizg.hr/doc-sec/fiziologija02/suzana_milinkovic_tur_kardiovaskularni_predavanja.pdf
 19. NEELY, J. R., M. J. ROVENTO, J. F. ORAM (1972): Myocardial utilization of carbohydrate and lipids. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 15, 289-329.
 20. OJEDA, N. B., B. S. HENNINGTON, D. T. WILLIAMSON, M. L. HILL, N. E. E. BETSON, J. C. SARTORI-VALINOTTI, J. F. RECKELHOFF, T. P. ROYALS, B.T. ALEXANDER (2012): Oxidative stress contributes to sex differences in blood pressure in adult growth-restricted offspring. *Hypertension* 60, 114-122.
 21. ORSHAL, J. M., R. A. KHALIL (2004): Gender, sex hormones and vascular tone, *A. J. Physiol.* 286, 233-249.
 22. POLJSAK, B., D. ŠUPUT and I. MILISAV (2013): Achieving the balance between ros and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxid. Med. Cell Longev.* Article ID 956792, 11 pages. doi:10.1155/2013/956792
 23. RAHAL, A., A. KUMAR, V. SINGH, B. YADAV, R. TIWARI, S. CHAKRABORTY, K. DHAMA (2014): Oxidative stress, prooxidans, and antioxidants: The interplay. *Bio. Med. Res. Int.*, [Internet] raspoloživo na: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/761264> [pristupljeno 3. ožujka 2014.].
 24. REN, J., R. O. KELLY (2009): Cardiac health in women with metabolic syndrome: clinical aspect and pathophysiology. *Obesity*, 17, 1114-1123.

25. SCHULZ, H. (1994): Regulation of fatty acid oxidation in heart. *J. Nutr.* 124, 165-171.
26. SCHULZE, P. C. (2009): Myocardial lipid accumulation and lipotoxicity in heart failure. *J. Lipid Res.* 50, 2314-2323.
27. SJAASTAD, Ø.V., O. SAND, K. HOVE (2017): Fiziologija domaćih životinja. Naklada Slap, Zagreb, 683-734.
28. STANLEY, W. C., F. A. RECCHIA, G. D. LOPASCHUK (2005): Myocardial substrate metabolism in the normal and failling heart. *Physiol. Rew.* 85, 1093-1129.
29. STEINBERG, D. (1997): Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J. Biol. Chem.* 272, 20963-20966.
30. STIRONE, C., S. P. DUCKLES, D. N. KRAUSE, V. PROCACCIO (2005): Estrogen increases mitochondrial efficiency and reduces oxidative stress in cerebral blood vessels. *Mol. Pharmacol.* 68, 959-965.
31. SWINDLE, M.M., A. MAKIN, A. J. HERRON, F. J. CLUBB Jr, K. S. FRAZIER (2012): Swine as models in Biochemical Research and Toxicology Testing. *Vet. Pathol.* 49, 344-357.
32. ŠTEFAN, L., T. TEPŠIĆ, T. ZAVIDIĆ, M. URUKALO, D. TOTA, R. DOMITROVIĆ (2007): Lipidna peroksidacija - uzroci i posljedice. *Medicina* 43, 84-93.
33. ŠVERKO, A. (2011): Povezanost pojavnosti i proširenosti bubrežnog karcinoma i tkivne ekspresije citokroma P450. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska
34. TSUTSUI, H., S. KINUGAWA, S. MATSUSHIMA (2009): Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in myocardial remodelling. *Cardiovasc. Res.* 81, 449-456.
35. TURGEON, J. L., D.P. MCDONNELL, K. A. MARTIN, P.M. WISE (2004): Hormone therapy: physiological complexity belies therapeutic simplicity. *Science (Wash DC)* 304, 1269-1273.
36. VENTURA-CLAPIER, R., A. GARNIER, V. VEKSLER (2003): Energy metabolism in heart failure. *J. Physiol.* 555, 1-13.
37. WHITFIELD, J. B. (2001): Gamma glutamyl transferase. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 38, 263-355.

38. ZHANG, L., S. WU, Y. RUAN, L. HONG, X. XING, W. LAI (2011): Testosterone suppresses oxidative stress via androgen receptor-independent pathway in murine cardiomyocytes. *Mol. Med. Rep.* 4, 1183-1188.

SPOLNE RAZLIKE POKAZATELJA METABOLIZMA MASTI I OKSIDACIJSKOG STRESA U KRVNOM SERUMU I SRČANOM MIŠIĆU SVINJA

8. SAŽETAK

Kardiovaskularne bolesti se danas smatraju vodećim uzrokom smrti u razvijenim zemljama. Većina kardiovaskularnih bolesti povezuje se sa staničnim i tkivnim oštećenjima nastalim zbog dugotrajnog izlaganja oksidacijskom stresu. Ispitivanja svojstava miokarda teško su provediva na ljudima, te se stoga svinje sve više koriste kao reprezentativni životinjski model, i to zbog svojih anatomskih, histoloških i biokemijskih sličnosti.

Cilj rada bio je istražiti spolne razlike metabolizma masti i oksidacijskog stresa u krvnom serumu i srčanom mišiću svinja. Istraživanje je provedeno na 15 klinički zdravih spolno zrelih svinja (5 nerasta, 5 ženki i 5 kastriranih mužjaka). Uzorci krvi su uzeti punkcijom *v. jugularis* u epruvete bez antikoagulansa (Vacutainer BD tube sa SSt II gelom, Plymouth, UK). U uzorcima krvnoga seruma određene su aktivnosti glutation peroksidaze (GSH-Px), glutation reduktaze (GSH-RD), superoksid dismutaze (SOD), gama glutamil transferaze (GGT) i laktat dehidrogenaze (LDH) te koncentracije triacilglicerola, fosfolipida, kolesterola, HDL-kolesterola, LDL-kolesterola, slobodnih masnih kiselina (SMK) i malonildialdehida (MDA). U uzorcima srčanoga mišića (lijevi ventrikul) određene su aktivnosti GSH-Px, GSH-RD, SOD, GGT i LDH te koncentracije triacilglicerola, fosfolipida, kolesterola i MDA.

Rezultati su pokazali da ženke imaju značajno višu ($p < 0,05$) razinu kolesterola, fosfolipida i GSH-Px u krvnom serumu od nerasta, te nešto višu razinu GGT-a, LDH, triacilglicerola i HDL-kolesterola. Istovremeno, nerasti su u serumu imali više razine GSH-RD, SOD, LDL-kolesterola, SMK i MDA od ženki. Rezultati dobiveni u miokardu su u skladu s onima dobivenim u krvnom serumu, osim razina GSH-RD, SOD i triacilglicerola. Tako su izmjerene aktivnosti GSH-RD, LDH i SOD bile više u ženki, dok su koncentracije triacilglicerola u srčanom mišiću ženki bile niže nego u mužjaka. Kastrirani mužjaci su imali značajno višu ($p < 0,05$) koncentraciju MDA u serumu i miokardu od ženki.

Povoljniji omjer LDL:HDL kolesterola i antioksidacijskih enzima GSH-Px:SOD u krvnom serumu, te najmanja koncentracija pokazatelja lipidne peroksidacije (MDA) u krvnom serumu i miokardu ženki upućuje na veću otpornost ženskih životinja na oksidacijski stres, što bi se moglo pripisati antioksidacijskom učinku estrogena.

Ključne riječi: svinje, srčani mišić, metabolizam masti, oksidacijski stres, spol

GENDER-RELATED DIFFERENCES IN LIPID METABOLISM INDICATORS AND OXIDATIVE STRESS IN SWINE BLOOD SERUM AND MYOCARDIUM

9. SUMMARY

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in industrialised countries which displays significant gender-based differences. Most cardiovascular diseases are connected with cellular and tissue damage caused by a long-term exposure to oxidative stress. It is also known that lipid peroxidation plays an important role in the pathogenesis of cardiovascular diseases. Testing myocardial characteristics in the human heart can often be hard or impossible to perform. Because of their anatomical, histological and biochemical cardiovascular similarities, swine are considered to be the best animal models for cardiovascular research.

This study aimed to investigate potential gender-related differences of lipid metabolism and oxidative stress in swine's blood serum and myocardium. The study was conducted on 15 clinically healthy sexually mature pigs (5 boars, 5 females and 5 males castrated). Blood samples were taken by puncture *v. jugularis* in tubes without anticoagulant (Vacutainer tubes with BD SST II gel, Plymouth, UK). In the obtained blood serum the activities of glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione reductase (GSH-RD), superoxide dismutase (SOD), gamma glutamyl transferase (GGT) and lactate dehydrogenase (LDH), as well as concentrations of triacylglycerols, phospholipids, cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, free fatty acids (FFA) and malondialdehyde (MDA) were determined. In heart muscle (left ventricle) samples the activities of GSH-Px, GSH-RD, SOD, GGT and LDH, and concentrations of triacylglycerols, phospholipids, cholesterol and MDA were determined.

The results showed that females have significantly higher levels ($p < 0.05$) of total cholesterol, phospholipids and GSH-Px in the blood serum, but not significantly higher ($p > 0.05$) levels of GGT, LDH, triacylglycerols and HDL-cholesterol compared to the respective levels in male swine. At the same time, the boars had higher levels of GSH-RD, SOD, LDL-cholesterol, FFA and MDA in the blood serum than females. Results from myocardial tissue correspond to the ones measured in the blood serum, with the exception of GSH-RD, LDH, SOD and triacylglycerols levels. Measured GSH-RD, LDH and SOD activities were higher in females than those in males, and the triacylglycerols levels were lower in females. Castrated males had significantly higher ($p < 0.05$) concentration of MDA in blood serum and myocardium than females.

The most favorable LDL:HDL and GSH-Px:SOD ratio in the blood serum, and the lowest levels of lipid peroxidation indicator (MDA) in the blood serum and myocardium were found in females, suggesting their better antioxidative resistance.

Keywords: swine, heart muscle, lipid metabolism, oxidative stress, gender

10. ŽIVOTOPIS

Sara Strelec rođena je 24.1.1994. u Zagrebu, RH. Završila je osnovnu školu u Zagrebu s odličnim uspjehom, te XV. Gimnaziju u Zagrebu. Nakon mature, 2012. godine upisuje integrirani preddiplomski i diplomski studij na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Pohađala je glazbeno učilište „Elly Bašić“, školu stranog jezika „Sova“ u Zagrebu gdje je učila talijanski jezik te školu stranog jezika „St. Giles International“ u Londonu u kojoj je pohađala napredni tečaj engleskoga jezika.

Od akademske godine 2013./2014. je aktivni član Studenske Sekcije za Neuroznanost na Medicinskom fakultetu te od akademske godine 2014./2015. je aktivni član studentske udruge eSTUDENT.

Tokom studija boravila je na klinikama Veterinarskog fakulteta u Budimpešti gdje je stjecala dodatna znanja iz područja kirurgije i porodništva.